

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

CT/EP 99/01607

09/6239

EP 99/1607

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



Bescheinigung

REC'D 14 MAY 1999	
WIPO	PCT

Die microParts Gesellschaft für Mikrostrukturtechnik mbH in Dortmund/
Deutschland und die MERLIN Gesellschaft für mikrobiologische Diagnostika
mbH in Bornheim, Rheinl./Deutschland haben eine Patentanmeldung unter der
Bezeichnung

"Mikrotiterplatte"

am 21. Januar 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprüngli-
chen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig das Symbol
B 01 L 3/00 der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 31. März 1999

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

Aktenzeichen: 199 02 309.3

Wassmaier

von Kreisler Selting Werner · Postfach 102241 · D-50462 Köln
P.O. Box

microParts Gesellschaft für
Mikrostrukturtechnik mbH
Hauert 7
44227 Dortmund

MERLIN Gesellschaft für
mikrobiologische Diagnostika mbH
Kleinstr. 14
53332 Bornheim-Hersel

Patentanwälte

Dr.-Ing. von Kreisler † 1973
Dipl.-Chem. Alek von Kreisler
Dipl.-Ing. Günther Selting
Dipl.-Chem. Dr. Hans-Karsten Werner
Dipl.-Chem. Dr. Johann F. Fues
Dipl.-Ing. Georg Dallmeyer
Dipl.-Ing. Jochen Hilleringmann
Dipl.-Chem. Dr. Hans-Peter Jönsson
Dipl.-Chem. Dr. Hans-Wilhelm Meyers
Dipl.-Chem. Dr. Thomas Weber
Dipl.-Chem. Dr. Jörg Helbing

982580de Hi/am

20. Januar 1999

Mikrotiterplatte

Die Erfindung betrifft eine Mikrotiterplatte, die für mikrobiologische Untersuchungen sowie medizinische Analytik und Diagnostik verwendet wird.

5 Die Erfindung bezweckt, den Aufwand für die Herstellung derartiger Mikrotiterplatten und bei deren Verwendung zu vermindern.

10 In der mikrobiologischen Diagnostik werden Absorption-, Streuungs- und Lumineszenzanalysen als optische Verfahren eingesetzt, z. B. Transmissions-, Fluoreszenz- oder Trübungsmessungen. Dabei werden Mikrotiterplatten oder Teststreifen aus durchsichtigem Kunststoff mit einer Vielzahl von einseitig offenen Kammern oder tassenförmigen

15 Vertiefungen benutzt. Die Platten oder Teststreifen haben z. B. 32 oder 96 Kammern oder Vertiefungen, die mit einem Reagenz belegt sind. Nach dem Beimpfen mit Bakterien-suspension werden die Mikrotiterplatten oder Teststreifen ggf. mit einer durchsichtigen Folie versiegelt oder mit

11.27.04.99

- 2 -

5 einem Deckel verschlossen. Die Vertiefungen haben ein Füllvolumen zwischen 60 μ l und 300 μ l und werden mittels apparativer Hilfsmittel einzeln befüllt; dazu werden Pipetten mit einem Kanal oder mit 8, 48 oder 96 Kanälen benutzt.

10 Aus US - 4 038 151 ist eine Probenplatte für ein automatisiertes optisches Untersuchungsverfahren bekannt, die zum Nachweisen und Auszählen von suspendierten Mikroorganismen und zum Bestimmen ihrer Empfindlichkeit gegen Antibiotika dient. Die Platte besteht aus einem steifen durchsichtigen Kunststoff. Sie ist etwa 60 mm breit, etwa 90 mm lang und etwa 3 mm dick und enthält z. B. 20 konische Probenkammern, die auf einer Plattenfläche (ohne Randbereiche) von etwa 25 cm² verteilt sind. Der rechnerische Flächenbedarf jeder Probenkammer beträgt etwa 125 mm². Die Querschnittsfläche der Probenkammern ist auf 15 der einen Plattenseite größer als auf der anderen Plattenseite. Neben jeder Probenkammer sind zwei Überlaufkammern angebracht, die auf der Seite jeder Probenkammer liegen, 20 auf der sich ein Füllkanal für die betreffende Probenkammer befindet. Die Probenkammern sind über Schlitze mit den Überlaufkammern verbunden. Die Probenkammern, die Schlitze und die Überlaufkammern erstrecken sich über die gesamte Dicke der Probenplatte. Die Probenkammern sind gruppenweise über speziell angeordnete und geformte und auf einer Plattenseite befindliche verzweigte Füllkanäle mit mindestens einer Füllkammer verbunden, die mit einem

30 Septum verschlossen ist. Die Füllkanäle treten an der größeren Seite der konischen Probenkammer tangential ein. Die Form und die Fläche des Querschnitts jedes Füllkanals

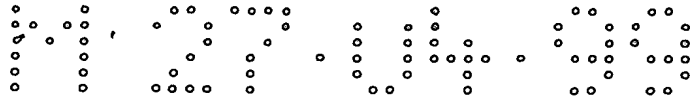
35 ändert sich an jeweils einer Stelle sprunghaft. An diesen Stellen geht - in Strömungsrichtung gesehen - ein flacher und breiter Kanal jeweils in einen tiefen und schmalen Kanal über. Die auf einer Plattenseite angeordneten Füllkanäle können länger sein als die jeweils kürzeste

Verbindung zwischen Probenkammer und Füllkammer, um die Rückdiffusion von in der Suspension vorhandenen Bestandteilen zu erschweren. Die Platte ist - bis auf einen Randbereich - auf beiden Seiten mit je einer semipermeablen Folie verklebt, die die Probenkammern, die Überlaufkammern, die Schlitze und die auf der einen Seite der Platte angebrachten Füllkanäle sowie eine Seite der Füllkammer bedeckt. Die Probenkammern sind mit einer eingetrockneten Schicht einer Reagenzsubstanz belegt. Auf einer Plattenseite sind in der Nähe des Plattenrandes flache achtförmige Vertiefungen angebracht, in die zur Kennzeichnung der Probenplatte maschinell lesbare Ziffern von Hand eingetragen werden können.

15 Nach dem Evakuieren aller Kanäle und Kammern in der Probenplatte wird die zu untersuchende Suspension aus einem außerhalb der Platte befindlichen Behälter mittels einer Kanüle durch das Septum hindurch von der Kante der Platte in die Füllkammer geleitet und strömt durch die Füllkanäle in die Probenkammern und in die Überlaufkammern. Die in die Probenkammer eingeströmte Suspension und die Reagenzschicht stehen in Kontakt mit der auf der Folie angebrachten Klebstoffschicht.

Bei der optischen Untersuchung der Proben in den Probenkammern steht die Probenplatte vertikal im Meßgerät. In dieser Lage treten die Füllkanäle in Bezug auf die Richtung der Schwerkraft von oben in die Probenkammern ein, und die Überlaufkammern liegen oberhalb der Probenkammern. Damit können sich in der Probenkammer ggf. vorhandene oder bei einer Reaktion oder einem Stoffwechsel entstehende Gasblasen in den Überlaufkammern sammeln, ohne die optische Untersuchung der Proben zu stören.

35 Aus US - 5 670 375 ist eine Probenplatte bekannt, deren bis zu 64 Kavitäten simultan beimpft werden. Nachdem die



Luft aus den Kavitäten abgesaugt wurde, strömt das zu untersuchende Fluid aus einem außerhalb der Probenplatte befindlichen Behälter durch ein Verbindungsrohr in die Kavitäten und füllt sie.

5

Mit zunehmender Verbreitung und Automatisierung derartiger Untersuchungsverfahren ist es erforderlich, die bisher verwendeten Mikrotiterplatten weiterzuentwickeln.

10

Damit stellt sich die Aufgabe, eine Mikrotiterplatte anzugeben, die auf einer vorgegebenen Plattenfläche eine größere Anzahl von Probenkammern enthält als die bekannten Platten, die kostengünstig herzustellen ist, die einfach zu handhaben ist, und die an die Forderungen der Mikrobiologie, an die medizinischen Untersuchungstechnik sowie an den Aufbau der eingesetzten Meßvorrichtung angepaßt ist.

15

20

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Mikrotiterplatte, die aus einer Grundplatte und einer Deckplatte besteht, und die gekennzeichnet ist durch

- eine Vielzahl von Probenkammern mit einem Boden in der Grundplatte,

- jeweils einen Zuleitungskanal zu jeder Probenkammer, der in die Probenkammer mündet, und dessen anderes Ende in einen Verbindungskanal mündet, der jeweils einer Gruppe von Probenkammern zugeordnet ist und mit einer Einfüllstelle in Verbindung steht, und

30

- jeweils einen Entlüftungsbereich an jeder Probenkammer, der mit einer Entlüftungsöffnung in Verbindung steht,

- mindestens eine Entlüftungsöffnung für jede Gruppe von Probenkammern;

35

- mindestens eine Einfüllstelle, die an mindestens einen Verbindungskanal angeschlossen ist, und

- eine Deckplatte, die die offene Seite der Probenkammern in der Grundplatte abdeckt, und die mit der Grundplatte zwischen allen Probenkammern flüssigkeitsdicht verbunden ist.

5

Der Zuleitungskanal mündet bevorzugt in radialer Richtung in die Probenkammer.

10

In der Wand jeder Probenkammer kann eine Einlaufrinne angebracht sein, die am Ende des zugehörigen Zuleitungskanals beginnt, und die bevorzugt bis zum Boden der Probenkammer reicht. Der Querschnitt der Einlaufrinne kann zum Boden der Probenkammer hin abnehmen.

15

Die Zuleitungskanäle und die Verbindungskanäle können in ihrer Gesamtheit entweder in der Deckplatte oder in der Grundplatte angebracht sein, und zwar jeweils in der Seite der Deckplatte oder der Grundplatte, die der Grundplatte beziehungsweise der Deckplatte zugekehrt ist. Ferner können einige Kanäle in der Deckplatte und andere Kanäle in der Grundplatte angebracht sein, wobei die Kanäle nach dem Zusammenfügen von Grund- und Deckplatte miteinander in Verbindung stehen.

20

30

Die Entlüftungsbereiche sind jeweils am offenen Ende jeder Probenkammer in der Grundplatte angebracht. Diese Bereiche können mit jeweils einer Entlüftungsöffnung in der Deckplatte in Verbindung stehen. Ferner können die Entlüftungsbereiche einer Gruppe von Probenkammern durch einen Entlüftungskanal verbunden sein, dessen eines Ende am Rand der Mikrotiterplatte offen ist und die

35

Entlüftungsöffnung bildet. Ein Entlüftungskanal kann allein oder gemeinsam mit anderen Kanälen entweder ganz in der Grundplatte, ganz in der Deckplatte oder zum Teil in der Grundplatte und zum Teil in der Deckplatte angebracht sein. Am Ende eines Entlüftungsbereiches (in Strömungs-

richtung gesehen) wird der Strömungsquerschnitt sprunghaft größer. Der Entlüftungskanal kann tiefer als der Entlüftungsbereich sein.

5 Die Wände der Probenkammern stehen bevorzugt senkrecht zur Grundplatte, sie können jedoch auch zur Grundplatte geneigt sein. In diesem Fall ist der Querschnitt der Probenkammern bevorzugt am offenen Ende größer als am Boden. Die Probenkammern können einen runden, rechteckigen oder mehreckigen Querschnitt haben. Das Volumen jeder Probenkammer kann von 0,01 μl bis 10 μl betragen.

10 Die Mikrotiterplatte kann von 50 bis 10 000 Probenkammern in der Grundplatte enthalten bei bis zu 35 Probenkammern pro Quadratzentimeter Plattenfläche.

15 Die Zuleitungskanäle haben eine Breite und eine Tiefe von 10 μm bis 500 μm . Die Verbindungskanäle haben eine Breite und eine Tiefe von 10 μm bis 1000 μm .

20 Die Einfüllstellen können in der Grundplatte oder in der Deckplatte angebracht sein. Ihr Volumen kann größer sein als das Volumen der an jede Einfüllstelle angeschlossenen Verbindungskanäle, der zugehörigen Zuleitungskanäle und der zugehörigen Gruppe von Probenkammern. In diesem Fall ist es hinreichend, die jeweils benötigte Fluidmenge auf einmal in die jeweilige Einfüllstelle zu geben. Wenn die Einfüllstellen während der Befüllzeit der Probenkammern jeweils portionsweise oder kontinuierlich mit dem zu untersuchenden Fluid versorgt werden, kann das Volumen jeder Einfüllstelle kleiner sein als es bei Einmal-Füllung erforderlich ist. Es kann zweckmäßig sein, in der Wand von

30 Einfüllstellen, die in der Grundplatte angebracht sind, jeweils eine Auslaufrinne vorzusehen, die vom Boden der Einfüllstelle bis zur Mündung eines Verbindungskanals in

35 die Einfüllstelle reicht. Die Auslaufrinne erleichtert den

praktisch vollständigen Übergang des Fluids aus der Einfüllstelle in den Verbindungskanal.

5

Die Mikrotiterplatte kann für Durchlicht-Messungen aus durchsichtigem Material wie Kunststoff oder Glas und für Lumineszenz-Messungen aus durchsichtigem oder undurchsichtigem Material wie Metall oder Silizium bestehen. Grundplatte und Deckplatte können aus demselben oder unterschiedlichem Material bestehen.

10

Die Höhe der Probenkammern und damit die Dicke der vom Licht durchstrahlten Fluidschicht kann an das optische Auswertungsverfahren angepaßt werden. Innerhalb einer Mikrotiterplatte können Probenkammern mit unterschiedlicher Höhe vorhanden sein.

15

Eine erfindungsgemäße typische Mikrotiterplatte (entsprechend Figuren 1a bis 1d) hat eine 3,5 mm dicke Grundplatte und eine 0,5 mm dicke Deckplatte. Die runden Probenkammern sind 3,0 mm tief, haben einen Durchmesser von 800 μm und ein Volumen von 1,5 Mikroliter. Die Zuleitungskanäle und die Verbindungskanäle haben einen rechteckigen Querschnitt, die Zuleitungskanäle sind 400 μm breit und 380 μm tief. Die Verbindungskanäle sind 500 μm breit und 380 μm tief. Die Entlüftungsbereiche sind (bei rechteckigem Querschnitt) 420 μm breit und 380 μm tief. Die Entlüftungskanäle sind 500 μm breit und 1000 μm tief. Auf einer Plattenfläche (ohne Randbereiche) von 21,5 mm x 25 mm, also 540 mm^2 , befinden sich 96 gleichzeitig befüllbare Probenkammern. Der rechnerische Flächenbedarf jeder Probenkammer beträgt also 5,6 mm^2 . Das entspricht

30

etwa 5 % des rechnerischen Flächenbedarfs einer Probenkammer bei einer bekannten Mikrotiterplatte.

35

Das zu untersuchende Fluid (Lösung oder Suspension) wird in einer bestimmten Menge in die Einfüllstelle einer aus

Grundplatte mit verbundener Deckplatte bestehenden Mikro-
titerplatte gegeben. Das Fluid strömt aufgrund der
Kapillarkraft durch die Verbindungskanäle und Zuleitungs-
kanäle gleichzeitig zu allen Probenkammern, die mit der
Einfüllstelle in Verbindung stehen, und durch die ggf.
vorhandene Einlaufrinne in die Probenkammer. Die Kapillar-
kraft der Einlaufrinne kann das Fluid aus dem Zuleitungs-
kanal "heraussaugen". Sobald der Boden der Probenkammer
benetzt ist, reicht die Kapillarkraft der Probenkammer
aus, um sie vollständig zu füllen. Die Strömung des Fluids
ist beendet, sobald das Fluid den Entlüftungsbereich
erreicht hat und der Strömungsquerschnitt des
anschließenden Entlüftungskanals oder der Strömungs-
querschnitt der Entlüftungsöffnung in der Deckplatte
sprunghaft größer wird. Damit stellt sich die in jede
Probenkammer einströmende Fluidmenge selbsttätig ein.
Während des Befüllvorganges wird die in den Kanälen und
Probenkammern enthaltene Luft verdrängt und entweicht
durch die Entlüftungsöffnung.

Nach dem Befüllen aller Probenkammern können die
Zuleitungskanäle jeweils in der Nähe jeder Probenkammer an
einer Stelle zugeschweißt werden, wodurch alle Proben-
kammern fluidseitig voneinander getrennt werden. Dadurch
wird die Diffusion von Bestandteilen des Fluids zwischen
den Probenkammern bei weiterer Behandlung der Mikro-
titerplatte, z. B. beim Bebrüten einer Bakterien-
suspension, verhindert.

Falls die Mikrotiterplatte zur Untersuchung einer
Bakteriensuspension benutzt wird, die nach dem Einfüllen
in die Probenkammern bebrütet wird, kann bevorzugt für
jede Probenkammer eine Entlüftungsöffnung vorgesehen
werden, die zum Versorgen der Bakteriensuspension mit
Sauerstoff dient. Bei anderen Untersuchungen, bei denen
keine Reaktionsgase entstehen, können die Entlüftungs-

bereiche einer Gruppe von Probenkammern mit jeweils einer Entlüftungsöffnung verbunden werden, und nach dem Befüllen der Probenkammern können die Entlüftungsöffnung und die Einfüllstelle zusätzlich verschweißt werden, wodurch die Mikrotiterplatte hermetisch verschlossen wird.

Für die Untersuchung von mikrobiologischen Proben mit Hilfe der erfindungsgemäßen Mikrotiterplatte kann es erforderlich sein, die zu untersuchende Probe zuvor zu amplifizieren, d. h. daß das Probenmaterial mengenmäßig vermehrt werden muß, bevor es über die Einfüllstelle bzw. Einfüllstellen den einzelnen Probenkammern zugeleitet wird. Der Vorgang des Amplifizierens und das Einbringen der amplifizierten Probe in die Einfüllstelle wird vereinfacht, wenn die Amplifizierung selbst am Ort der Einfüllstelle erfolgt. Dann ist es wünschenswert, das amplifizierte Probenmaterial von außen gesteuert an die den der Einfüllstelle zugeordneten Probenkammern zuzuleiten. Dies erfolgt gemäß einer vorteilhaften Variante der Erfindung dadurch, daß zwischen der Einfüllstelle und der ersten von dem mindestens einen Verbindungskanal abzweigenden Zuleitung ein erstes Ventil angeordnet ist, das vorzugsweise als Einmalventil ausgebildet ist, welches lediglich ein einziges Mal aus seinem Sperrzustand in den Durchlaßzustand überführt werden kann. Wenn der Transport der Probe von der Einfüllstelle zu den einzelnen Probenkammern durch Kapillarkräfte erfolgt, was bevorzugt angestrebt ist, weshalb sämtliche in der Mikrotiterplatte ausgebildeten Kanäle als Kapillare ausgebildet sind, dann kann dieses erste Ventil auch in dem Entlüftungskanal angeordnet sein, der der Gruppe von Probenkammern zugeordnet ist, mit denen die Einfüllstelle verbunden ist. Denn durch die somit erfolgende gesteuerte Entlüftung der Probenkammern wird somit der Zufluß des Probenmaterials aus der Einfüllstelle in die einzelnen Probenkammern gesteuert.

11.27.04.99

- 10 -

Die "Schnittstelle" der erfindungsgemäßen Mikrotiterplatte zur Ansteuerung des ersten Ventils bzw. der ersten Ventile sollte recht einfach ausgestaltet sein. Das setzt voraus, daß das Ventil sich einfach von extern ansteuern läßt. Bevorzugt ist vorgesehen, das Ventil hydraulisch bzw. pneumatisch zu steuern, und zwar durch die am Ventil anstehende Flüssigkeit bzw. durch das anstehende Gas. Indem nämlich beispielsweise auf das sich in der Einfüllstelle befindende Probenmaterial ein Druckimpuls ausgeübt wird, entsteht am ersten Ventil ein hydraulischer Druck, der ein Sperrelement des ersten Ventils aufbricht oder in sonstiger Weise überbrückt. So ist es beispielsweise denkbar, daß das erste Ventil als Berstventil mit einer Berstfolie ausgebildet ist, die bei Überschreitung eines bestimmten Drucks aufbricht und damit den Kanal, in dem sich das Ventil befindet, öffnet. Alternativ können Klappenventile bzw. Rückschlagventile eingesetzt werden, die bei Erreichen eines entsprechenden Drucks des anstehenden Fluids (Flüssigkeit oder Gas) öffnen. Diese Art von Ventilen ist insbesondere dann bevorzugt, wenn der Transport der Fluide durch die Mikrotiterplatte druckbeaufschlagt, also nicht durch Kapillarkräfte erfolgt.

Eine weitere Alternative der Ausgestaltung des ersten bzw. der ersten Ventile besteht darin, daß dieses eine hydrophobe Ausgestaltung aufweist, die in Form einer entsprechenden Oberflächenbearbeitung des Kanals im Bereich des Ventils oder durch ein Einsatzteil realisiert

wird. Das am hydrophoben Ventil anstehende Fluid überbrückt dieses beispielsweise in Folge einer insbesondere impulsartigen Druckbeaufschlagung. Wenn der Kanal im Bereich des Ventils auf diese Weise mit Flüssigkeit benetzt ist und Kapillarkräfte zum weiteren Transport der Flüssigkeit eingesetzt werden, so ist damit ein Einmalventil geschaffen, das sich recht einfach von extern,

nämlich durch Druckbeaufschlagung der Einfüllstelle überbrücken läßt.

5 Das erste Ventil kann aber auch vorteilhafterweise als Kanalaufweitung ausgebildet sein, die ihrerseits wie ein Kapillarsprung wirkt. Sobald diese Kanalaufweitung mit Flüssigkeit aufgefüllt ist, was beispielsweise durch entsprechende Druckbeaufschlagung an der Einfüllstelle erfolgt oder aber durch Einbringen einer Fremd- bzw.

10 Steuerflüssigkeit von extern erfolgt, ist der Transport der Flüssigkeit hinter dem Ventil durch Kapillarkräfte gesichert, so daß das Ventil selbst wiederum hydraulisch überbrückbar ist.

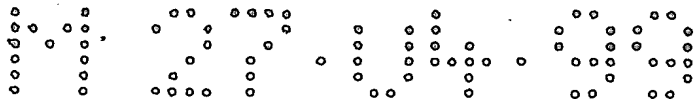
15 Bei mikrobiologischen Untersuchungen kann es erforderlich oder wünschenswert sein, in das Fluid (Lösung oder Suspension), das sich in den Probenkammern und in den Entlüftungsbereichen neben jeder Probenkammer befindet, nach dem Entlüften und nach dem Füllen der Probenkammern

20 nachträglich eine weitere in einer Flüssigkeit befindliche Hilfssubstanz einzubringen. Die Hilfssubstanz kann zum Beispiel ein Farbstoff, ein Indikator oder ein Reagenz sein, mit dem zum Beispiel das Ende einer Reaktion optisch erkennbar ist.

Für diese Verfahrensvariante kann bevorzugt eine Mikrotiterplatte verwendet werden, bei der die Entlüftungsbereiche einer Gruppe von Probenkammern mit jeweils einem Entlüftungskanal in Verbindung stehen. Die Weiterbildung der erfindungsgemäßen Mikrotiterplatte hat an einem Ende

30 jedes Entlüftungskanals eine - bevorzugt in der Grundplatte angebrachte - nach oben offene Einfüllstelle für die eine Hilfssubstanz enthaltende Flüssigkeit. Am anderen Ende des Entlüftungskanals befindet sich eine Öffnung. In

35 eine Einfüllstelle für die Hilfssubstanz können mehrere Entlüftungskanäle münden. Falls der Boden der Einfüll-



stelle für die Hilfssubstanz unterhalb der in die Einfüll-
stelle mündenden Entlüftungskanäle liegt, kann sich an die
Mündung jedes Entlüftungskanals in die Einfüllstelle für
die Hilfssubstanz in der Wand der Einfüllstelle eine
5 Auslaufrinne anschließen, die bis zum Boden der Einfüll-
stelle für die Hilfssubstanz reicht. In einer bevorzugten
Ausführungsform erstreckt sich die Deckplatte nur über den
Bereich der Grundplatte, der im wesentlichen der Länge der
Entlüftungskanäle entspricht; die mindestens eine Einfüll-
10 stelle für die Hilfssubstanz an dem einen Ende jedes
Entlüftungskanals sowie die Öffnung am anderen Ende jedes
Entlüftungskanals werden von der Deckplatte nicht bedeckt.

15 Falls sich die Deckplatte auch über die Einfüllstellen für
die Hilfssubstanz erstreckt, hat die Deckplatte oberhalb
jeder Einfüllstelle für die Hilfssubstanz eine Öffnung.
Diese Öffnung dient zunächst zum Entlüften der Proben-
kammern und Entlüftungskanäle. Zu einem späteren Zeitpunkt
20 wird durch diese Öffnung die Flüssigkeit mit der Hilfs-
substanz eingefüllt. Falls das andere Ende jedes
Entlüftungskanals von der Deckplatte überdeckt wird, hat
die Deckplatte in diesem Bereich Öffnungen, die mit dem
Ende jedes Entlüftungskanals in Verbindung stehen.

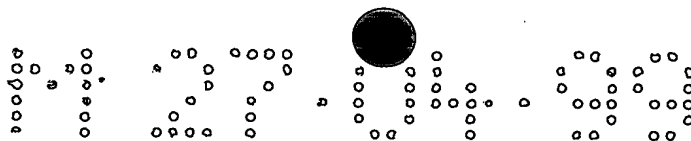
Das Volumen der Einfüllstelle für die Hilfssubstanz ist
bevorzugt mindestens so groß wie das Volumen aller an eine
derartige Einfüllstelle angeschlossenen Entlüftungskanäle.

30 Nach dem Einfüllen der Flüssigkeit mit der Hilfssubstanz
in die dafür vorgesehene Einfüllstelle zieht die Kapillar-
kraft diese Flüssigkeit in jeden der angeschlossenen
Entlüftungskanäle und füllt sie vollständig aus. Die dabei
aus den Entlüftungskanälen verdrängte Luft entweicht aus
35 der Öffnung am anderen Ende jedes Entlüftungskanals. Am
Ende der Entlüftungsbereiche, die neben jeder Probenkammer

liegen, berührt die die Hilfssubstanz enthaltende Flüssigkeit das in der Probenkammer enthaltene Fluid. Die Hilfssubstanz diffundiert von dieser Stelle aus in das Fluid in der zugeordneten Probenkammer. Die durch die Hilfssubstanz bewirkte Veränderung des Fluids in der Probenkammer wird optisch nachgewiesen.

Zwecks gezielter Zufuhr der Hilfssubstanz über einen Entlüftungskanal in die diesem zugeordneten Probenkammern ist es zweckmäßig, zwischen den Entlüftungskanal und den Probenkammern jeweils zweite Ventile vorzusehen, die von extern ansteuerbar sind. Diese zweiten Ventile sind insbesondere so, wie anhand der ersten Ventile oben beschrieben ausgebildet. Zweckmäßigerweise befinden sich diese zweiten Ventile in den Verbindungen zwischen den Probenkammern und dem betreffenden Entlüftungskanal und bei hydraulisch bzw. pneumatisch betriebenen zweiten Ventilen lassen sich diese dann durch Druckbeaufschlagung der Hilfssubstanz gleichzeitig überbrücken, so daß die Hilfssubstanz an die Probenkammern gezielt abgegeben werden kann. Werden zweite Ventile eingesetzt, die eine als Kapillarsprung wirkende Kanalaufweitung mit der Möglichkeit der Einbringung einer Steuerflüssigkeit aufweisen, so ist durch Zugabe dieser Steuerflüssigkeit von außen das gezielte Öffnen einzelner oder, wenn die Zuführleitungen für die Steuerflüssigkeit zu den einzelnen Kanalaufweitungen untereinander verbunden sind, sämtlicher zweiter Ventile möglich.

Die strukturierte Grundplatte und ggf. die strukturierte Deckplatte der Mikrotiterplatte können aus Kunststoff, wie Polystyrol oder Polymethylmethacrylat, durch Abformen jeweils eines Formeinsatzes im Mikrospritzgußverfahren hergestellt werden. Die Struktur des Formeinsatzes ist komplementär zur Struktur der strukturierten Grundplatte oder der strukturierten Deckplatte. Der Formeinsatz kann



- 14 -

durch Lithographie und Galvanoformung, durch Mikro-
erodieren oder durch mikromechanische Bearbeitung wie
Diamantfräsen hergestellt werden.

- 5 Weiter können die strukturierte Grundplatte und ggf. die
strukturierte Deckplatte aus einem photoätzbaren Glas
(z. B. von der Firma Schott) oder aus Silizium durch
anisotropes Ätzen oder durch mikromechanische
Bearbeitungsverfahren hergestellt werden.

10



Deckplatte und Grundplatte werden an ihren Berührungs-
flächen miteinander verbunden, z. B. durch Ultraschall-
Schweißen. Alle Kanäle und Probenkammern sind
flüssigkeits- und gasdicht voneinander getrennt.

15

Die erfindungsgemäße Mikrotiterplatte hat folgende
Vorteile:

20

- Sie enthält eine wesentliche größere Anzahl von
Probenkammern mit geringerem Volumen jeder Proben-
kammer und einer dichteren Packung der Probenkammern
in der Platte als herkömmliche Platten.
- Sie ist bei gegebener Anzahl von Probenkammern kleiner
als bekannte Platten.
- Sie erlaubt einen größeren Probendurchsatz.
- Das Befüllen der Probenkammern mit dem zu
untersuchenden Fluid geht schneller und ist bei
geringerem apparativen Aufwand einfacher als bei
herkömmlichen Platten.
- Zum Befüllen der Probenkammern ist weder ein Überdruck
an der Einfüllstelle noch ein Unterdruck an der
Entlüftungsöffnung erforderlich.
- Die Einfüllstelle ist einfacher gebaut als bekannte
Vorrichtungen, mit denen die Probenkammern einzeln
befüllt werden.

30



- Die Einfüllstellen werden mittels handelsüblicher Geräte befüllt, an die sie nach Abmessungen und Volumen angepaßt sind.
- 5 - Eine in einer Flüssigkeit vorhandene Hilfssubstanz kann bei einer Mikrotiterplatte, die mit Einfüllstellen für die Hilfssubstanz versehen ist, auf einfache Weise in die bereits mit einem Fluid gefüllten Probenkammern nachträglich eingebracht werden.
- 10 - Das Probenmaterial kann gezielt von der Einfüllstelle an die einzelnen Probenkammern abgegeben werden, und zwar durch Einbringung eines ersten Ventils in das Kanalsystem, das sich insgesamt an die Einfüllstelle anschließt.
- 15 - Auch die ggf. den Probenkammern von deren Entlüftungsseite aus zuzuführende Hilfssubstanz kann gesteuert in die Probenkammern eingebracht werden, indem in dem Entlüftungstrakt zweite Ventile angeordnet sind. Diese zweiten Ventile lassen sich insbesondere so, wie auch
- 20 die ersten Ventile, hydraulisch, pneumatisch o. dgl. steuern.
- Die abgedeckten Probenkammern werden vollständig mit dem zu untersuchenden Fluid gefüllt. Das Füllvolumen jeder Probenkammer ist automatisch festgelegt; eine Dosiervorrichtung für jede einzelne Probenkammer ist nicht erforderlich.
- Das in den Probenkammern befindliche Fluid ist während einer ggf. weiteren Behandlung und während der Messung durch die mit der Grundplatte dicht verbundene Deck-
- 30 platte vor dem Verdunsten wirksam geschützt.
- An den beiden Böden der Probenkammern ist keine Klebstoffschicht vorhanden.
- Die Herstellkosten sind kleiner als bei herkömmlichen Platten.
- 35 - Der Materialbedarf für die Belegung der Probenkammern mit einem Reagenz, der Bedarf an Untersuchungs-

material, z. B. Bakteriensuspension, Blutproben oder Wirkstoffen, und damit die Kosten sind kleiner als bei Platten mit größerem Volumen der Probenkammern.

- Für das zu untersuchende Fluid, z. B. eine Bakteriensuspension, können Einfüllstellen vorgesehen werden, die sich in der Grundplatte oder in der Deckplatte befinden, und in die ggf. mehrere Verbindungskanäle münden.

- Die mikrobiologische, mikrochemische oder bakteriologische Untersuchung der in die Mikrotiterplatte eingebrachten Proben ist vollautomatisierbar bei vermindertem Aufwand für die Meßgeräte.

- Die Mikrotiterplatten können bei normaler Zimmertemperatur gelagert werden. Der Platzbedarf bei der Lagerung ist deutlich geringer als bei herkömmlichen Mikrotiterplatten.

- Die Platten sind, analog zu den bekannten Platten, für einmaligen Gebrauch bestimmt. Wegen der größeren Packungsdichte der Probenkammern ist die zu entsorgende Menge an gebrauchten Mikrotiterplatten geringer als bei Verwendung herkömmlicher Mikrotiterplatten.

Die Probenkammern in der Mikrotiterplatte können mittels einer angepaßten miniaturisierten Vorrichtung mit einem chemisch oder biologisch wirksamen Reagenz belegt werden, das nach dem Einbringen des Reagenzfluids eingetrocknet

wird und auf dem Boden und auf den Wänden der Probenkammern haftet. Als Reagenzien können beispielsweise Oligopeptid- β -NA-Derivate, p-Nitrophenyl-Derivate, Zucker

für Fermentations- und andere Untersuchungen, organische Säuren, Aminosäuren für Assimilationsuntersuchungen, Decarboxylase-Substrate, Antibiotika, Antimycotica, Nährböden, Markersubstanzen, Indikatorsubstanzen und andere Substanzen verwendet werden.

Die erfindungsgemäße und ggf. mit Reagenz belegte Mikrotiterplatte kann für den biochemischen Nachweis und die Empfindlichkeitsprüfung von klinisch bedeutsamen Mikroorganismen verwendet werden. In einem voll-

5 automatisierten und miniaturisierten System wird eine definierte Suspension von Mikroorganismen hergestellt, mit der die Mikrotiterplatte beschickt wird. Die beimpfte Platte wird - ggf. nach einer weiteren Behandlung -

10 mittels eines optischen Verfahrens vermessen. Die dabei erhaltenen Ergebnisse werden rechnerunterstützt erfaßt und mittels angepaßter Verfahren mathematisch ausgewertet und beurteilt.

Die erfindungsgemäße Mikrotiterplatte kann in der Blutgruppen-Serologie, der klinische Chemie, beim mikrobiologischen Nachweis von Mikroorganismen, bei der Prüfung der Empfindlichkeit von Mikroorganismen gegen Antibiotika, in der Mikroanalytik sowie bei der Prüfung von Wirkstoffen

15 verwendet werden.

Die erfindungsgemäße Mikrotiterplatte wird an Hand der folgenden Figuren weiter erläutert.

20

Figur 1a zeigt einen Ausschnitt aus einer Mikrotiterplatte von oben durch die Deckplatte hindurch gesehen. Dieser Ausschnitt enthält zwei Gruppen von Probenkammern (3), wobei jeweils 24 Probenkammern über je einen Zuleitungskanal (6) an einen Verbindungskanal (7) angeschlossen sind. Jeder Verbindungskanal erstreckt sich bis zur Mitte einer Einfüllstelle (8). Neben jeder Probenkammer (3) ist bevorzugt gegenüber der Mündung des Zuleitungskanals (6)

30

ein Entlüftungsbereich (9) angebracht. Die Entlüftungsbereiche einer Gruppe von Probenkammern stehen mit jeweils einem Entlüftungskanal (10) in Verbindung. Das Ende jedes Entlüftungskanals (10) ist die Entlüftungsöffnung (11) am

35 Rand der Grundplatte.

Figur 1b zeigt die Mikrotiterplatte gemäß Figur 1a in Seitenansicht. Die Grundplatte (1) ist mit der gestuften Deckplatte (2) abgedeckt. Die Grundplatte enthält Probenkammern (3) mit Boden (4) sowie in ihrer der Deckplatte zugewandten Seite Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7). Die Deckplatte (2) enthält in ihrem dickeren Teil Einfüllstellen (8), die diesen Teil der Deckplatte in ihrer gesamten Dicke durchdringen. Nach dem Zusammenfügen von Grund- und Deckplatte stehen die Verbindungskanäle (7) mit den Einfüllstellen (8) in Verbindung. Der Entlüftungskanal (10) mündet in der Entlüftungsöffnung (11) am Rand der Grundplatte.

Figur 1c zeigt einen Querschnitt durch die Mikrotiterplatte an der in Figur 1a mit A-A gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind Probenkammern (3) mit Boden (4), Verbindungskanäle (7), Zuleitungskanäle (6) sowie Einlauf-
rinnen (5) in der Grundplatte (1). Gegenüber der Mündung des Zuleitungskanals (6) ist der Entlüftungsbereich (9) angebracht, der mit dem Entlüftungskanal (10) in Verbindung steht.

Figur 1d zeigt in vergrößerter Darstellung von oben gesehen eine Probenkammer (3), einen Zuleitungskanal (6), eine Einlaufrinne (5), einen Entlüftungsbereich (9) und einen Entlüftungskanal (10).

~~Figur 2a zeigt einen Ausschnitt aus einer anderen Ausführungsform der Mikrotiterplatte von oben durch die Deckplatte hindurch gesehen. Dargestellt sind Probenkammern (3), Zuleitungskanäle (6), Verbindungskanäle (7) und Einfüllstellen (8). Bei dieser Ausführungsform reichen die Verbindungskanäle (7) bis zum Rand der Einfüllstellen (8). Die Entlüftungsbereiche einer Gruppe von Probenkammern (3) sind mit jeweils einem Entlüftungskanal (10).~~



verbunden, der am Rand der Grundplatte in der Entlüftungs-
öffnung (11) mündet.

Figur 2b zeigt die Mikrotiterplatte gemäß Figur 2a in
Seitenansicht. Die Grundplatte (1) ist mit der gestuften
Deckplatte (2) abgedeckt. Die Grundplatte enthält mit
einem Boden (4) versehene Probenkammern (3). Die Deck-
platte enthält in ihrer der Grundplatte zugewandten Seite
Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) sowie in
ihrem dickeren Teil Einfüllstellen (8), die diesen Teil
der Deckplatte in ihrer gesamten Dicke durchdringen. Nach
dem Zusammenfügen von Grund- und Deckplatte steht jeder
Zuleitungskanal mit jeweils einer Probenkammer in
Verbindung. Der Entlüftungskanal (10) mündet am Rand der
Grundplatte in der Entlüftungsöffnung (11).

Figur 2c zeigt einen Querschnitt durch die Mikro-
titerplatte an der in Figur 2a mit B-B gekennzeichneten
Linie. Dargestellt sind Probenkammern (3) mit Boden (4),
Verbindungskanäle (7), Zuleitungskanäle (6), Einlaufrinnen
(5), Entlüftungsbereiche (9) und Entlüftungskanäle (10).

Figur 3a zeigt einen Ausschnitt aus einer weiteren
Ausführungsform der Mikrotiterplatte von oben durch die
Deckplatte hindurch gesehen. Dargestellt sind Proben-
kammern (3), Zuleitungskanäle (6), Verbindungskanäle (7)
und Einfüllstellen (16). Bei dieser Ausführungsform
reichen die Verbindungskanäle (7) bis zum Rand der
Einfüllstellen. Die Deckplatte erstreckt sich in diesem
Fall bis zur Linie (15); sie deckt den Teil der Mikro-
titerplatte ab, der Probenkammern, Zuleitungskanäle und

Verbindungskanäle enthält. An der Mündung des Verbindungs-
kanals (7) in die Einfüllstelle (8) schließt sich in der
Wand der Einfüllstelle eine Auslaufrinne (18) an, die bis
zum Boden der Einfüllstelle reicht. Die Entlüftungskanäle



(10) münden in der Entlüftungsöffnung (11) am Rand der Grundplatte.

Figur 3b. zeigt einen Querschnitt durch die Mikrotiterplatte an der in Figur 3a mit C-C gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind Grundplatte (1) und Deckplatte (2), die in diesem Fall eine Folie ist. Die Grundplatte enthält mit einem Boden (4) versehene Probenkammern (3) mit Einlaufrinnen (5) sowie Zuleitungskanäle (6), Verbindungskanäle (7), Entlüftungsbereiche (9) und Entlüftungskanäle (10).

Figur 3c zeigt einen Querschnitt durch die Mikrotiterplatte an der in Figur 3a mit D-D gekennzeichneten Linie. Die Grundplatte (1) enthält mit einem Boden (17) versehene Einfüllstellen (16), in deren Wand eine Auslaufrinne (18) angebracht ist, die vom Boden der Einfüllstelle bis zur Einmündung des Verbindungskanals (7) in die Einfüllstelle reicht.

Figur 3d zeigt analog zu Figur 1d in vergrößerter Darstellung von oben gesehen eine Probenkammer (3), einen Zuleitungskanal (6), eine Einlaufrinne (5), einen Entlüftungsbereich (9) und einen Entlüftungskanal (10).

Figur 3e zeigt eine andere Ausführungsform der Probenkammer in vergrößerter Darstellung von oben gesehen analog zu Figur 3d. Die Probenkammer (12) hat einen quadratischen Querschnitt. Die Einlaufrinne (13) wird durch eine Kante der Probenkammer gebildet. Der Entlüftungsbereich (9) steht mit dem Entlüftungskanal (10) in Verbindung.

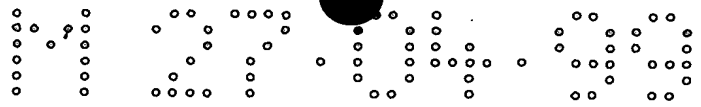
Figur 4a zeigt einen von oben gesehenen Ausschnitt aus einer Ausführungsform der Mikrotiterplatte mit Einfüllstellen für die eine Hilfssubstanz enthaltende Flüssigkeit. Dargestellt sind Probenkammern (3), Verbindungskanäle (7) und in der Grundplatte angeordnete Einfüll-

stellen (16). Die Entlüftungskanäle (10) in der Grundplatte haben an ihrem einen Ende die Entlüftungsöffnung (11) am Rand der Grundplatte. Am anderen Ende münden die Entlüftungskanäle (10) in eine in der Grundplatte angebrachte Einfüllstelle (20;21) für die Hilfssubstanz. In die Einfüllstelle (20) mündet ein Entlüftungskanal (10), in die Einfüllstelle (21) münden zwei Entlüftungskanäle (10). Am Übergang jedes Entlüftungskanals (10) in eine Einfüllstelle für die Hilfssubstanz ist eine Auslaufrinne (22) in der Wand dieser Einfüllstelle für die Hilfssubstanz vorhanden. Der Rand der Deckplatte ist durch die Linie (23) dargestellt. Die Deckplatte (2) überdeckt den gesamten Bereich der Grundplatte zwischen dem Deckplattenrand (23) und dem Rand der Grundplatte, in dem sich die Entlüftungsöffnungen (11) befinden.

Figur 4b zeigt einen Querschnitt durch die Mikrotiterplatte an der in Figur 4a mit E-E gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind der Querschnitt durch die Grundplatte (1) und der Rand (23) der Deckplatte (2) in Aufsicht. Die Grundplatte enthält mehrere mit einem Boden versehene Einfüllstellen (20;21) sowie Auslaufrinnen (22) in der Wand der Einfüllstellen für die eine Hilfssubstanz enthaltende Flüssigkeit. Weiter sind Entlüftungskanäle (10) und Verbindungskanäle (7) im Querschnitt dargestellt.

Figur 5a zeigt einen Ausschnitt aus einer weiteren Ausführungsform der Mikrotiterplatte mit Einfüllstellen für die eine Hilfssubstanz enthaltende Flüssigkeit. Dargestellt sind Probenkammern (3), Verbindungskanäle (7) und in der Grundplatte angebrachte Einfüllstellen (16).

Mehrere Entlüftungskanäle (10) in der Grundplatte münden an ihrem einen Ende in eine in der Grundplatte angebrachte Einfüllstelle (24) für die Hilfssubstanz. Am Übergang jedes Entlüftungskanals (10) in die Einfüllstelle (24) ist eine Auslaufrinne (22) in der Wand der Einfüllstelle für



die Hilfssubstanz vorhanden. Die Deckplatte bedeckt alle Probenkammern (3), sie reicht jedoch nicht bis zum Rand der Einfüllstelle (24) für die Hilfssubstanz. Der Rand der Deckplatte ist durch die Linie (25) dargestellt. Das
5 jeweils andere Ende jedes Entlüftungskanals (10) liegt außerhalb des von der Deckplatte bedeckten Bereiches. Der Rand der Deckplatte ist durch die Linie (23) dargestellt.

Figur 5b zeigt einen Querschnitt durch die Mikrotiterplatte an der in Figur 5a mit F-F gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind der Querschnitt durch die Grundplatte (1) und der Rand (25) der Deckplatte (2) in Aufsicht. Die Grundplatte enthält die mit einem Boden
10 versehene Einfüllstelle (24) sowie Auslaufrinnen (22) in der Wand der Einfüllstelle für die Hilfssubstanz. Weiter sind Entlüftungskanäle (10) im Querschnitt dargestellt.

Figur 6a zeigt einen Ausschnitt aus einer weiteren Ausführungsform der Mikrotiterplatte. Hier ist die Ansicht der nicht abgedeckten Grundplatte von oben gesehen
20 dargestellt. Die Grundplatte (1) enthält Probenkammern (3), Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) sowie Entlüftungsbereiche (9), die im Bereich des oberen Randes der Probenkammer angebracht sind. Bei dieser Ausführungsform ist in der Wand der Probenkammer keine Einlaufrinne vorgesehen.

~~Figur 6b zeigt einen Querschnitt durch die Grundplatte an der in Figur 6a mit G-G gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind mit Boden (4) versehene Probenkammern (3), Zuleitungskanäle (6), Verbindungskanäle (7) und Entlüftungsbereiche (9).~~

Figur 7a zeigt von oben gesehen die Ansicht der Deckplatte für die in Figur 6a dargestellte Grundplatte. Diese Deckplatte (2) enthält Öffnungen (14) und Einfüllstellen (8),
35

die als an beiden Enden offene Zylinder (19) aus der Deckplatte hervorragen.

Figur 7b zeigt einen Querschnitt durch die Deckplatte an der in Figur 7a mit H-H gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind Einfüllstellen (8), die als an beiden Enden offene Zylinder (19) aus der Deckplatte (2) hervorragen. Nach dem Zusammenfügen einer Grundplatte gemäß Figur 4a mit einer Deckplatte gemäß Figur 5a stehen die Verbindungskanäle (7) in der Grundplatte mit Einfüllstellen (8) in der Deckplatte in Verbindung. Ferner stehen die Entlüftungsbereiche (9) in der Grundplatte mit Öffnungen (14) in der Deckplatte in Verbindung.

Wie in den Fign. 1a, 2a und 3a angedeutet, befinden sich in den Verbindungskanälen (7) zwischen den Einfüllstellen (8) und den Zuleitungskanälen (6) erste Ventile (25), die alternativ auch vor den Entlüftungsöffnungen (11) der Entlüftungskanäle (10) angeordnet sein können, was in diesen Fign. bei 26 angedeutet ist. Mit Hilfe dieser ersten Ventile (25) oder (26) ist es möglich, die in den Einfüllstellen (8) befindliche Probensubstanz gezielt an die Probenkammern (3) abzugeben. Auch die Zugabe der Hilfssubstanz aus den Einfüllstellen (20) über die Entlüftungskanäle (11) in die einzelnen Probenkammern (3) kann durch zweite Ventile gesteuert erfolgen. Diese Situation ist in den Fign. 4a und 5a bei 27 angedeutet. Sowohl die ersten als auch die zweiten Ventile können jeweils unterschiedliche Ausgestaltungen aufweisen. Insbesondere sind diese Ventile hydraulisch bzw. pneumatisch steuerbar und als Einmalventile ausgebildet,

indem auf die in den Einfüllstellen (8) bzw. (16) und (20) befindlichen Substanzen (Probensubstanz oder Hilfssubstanz) ein Druckimpuls aufgebracht wird. Beispielsweise weisen die Ventile eine Hydrophobisierung an ihren Innenwänden oder einen hydrophoben Einsatz auf, der ohne Druck-

beaufschlagung der Proben- bzw. Hilfssubstanz nicht
benetzt und erst durch die Druckbeaufschlagung überbrückt
werden kann. Eine Alternative zu dieser Ausgestaltung der
Ventile ist das Vorsehen von Berstventilen, die ab einem
5 bestimmten anstehenden Druck aufbrechen. Schließlich
können diese Ventile auch als Kanalaufweitungen
ausgebildet werden, die dann als Kapillarsprung wirken.
Sobald diese Kanalaufweitung bzw. der Kapillarsprung mit
10 Flüssigkeit aufgefüllt wird, kommt es zu einem Flüssig-
keitsstrom, wodurch das Ventil sozusagen aus seinem Sperr-
zustand in den Durchlaßzustand überführt worden ist. Die
Auffüllung der Kanalaufweitung kann durch eine zusätzliche
Flüssigkeit erfolgen, die über einen in die Kanal-
aufweitung mündenden Kanal eingebracht wird, oder aber
15 durch die Proben- bzw. Hilfssubstanz aufgefüllt wird, die
in Folge einer entsprechenden Druckbeaufschlagung in die
Kanalaufweitung eindringt. In sämtlichen dieser Fälle
ergeben sich auf einfache Weise anzusteuern-
(Einmal-)Ventile, die ein einfaches Interface der Mikro-
20 titerplatte erfordern.

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Mikrotiterplatte, mit einer Grundplatte (1) und einer Deckplatte (2), gekennzeichnet durch
 - eine Vielzahl von Probenkammern (3) mit einem Boden (4) in der Grundplatte,
 - jeweils einen Zuleitungskanal (6) zu jeder Probenkammer, der in die Probenkammer (3;12) mündet, und dessen anderes Ende in einen Verbindungskanal (7) mündet, der jeweils einer Gruppe von Probenkammern zugeordnet ist und mit einer Einfüllstelle (8;16) in Verbindung steht,
 - jeweils einen Entlüftungsbereich (9) an jeder Probenkammer,
 - mindestens eine Entlüftungsöffnung (11;14) für jede Gruppe von Probenkammern, die mit mindestens einem Entlüftungsbereich (9) in Verbindung steht, und
 - mindestens eine Einfüllstelle (8;16), die an mindestens einen Verbindungskanal (7) angeschlossen ist, und
 - eine Deckplatte (2), die die offene Seite der Probenkammern in der Grundplatte abdeckt, und sich mindestens über den Bereich der Mikrotiterplatte erstreckt, in dem sich Probenkammern (3), Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) befinden, und die mit der Grundplatte (1) in den Bereichen zwischen allen Probenkammern flüssigkeitsdicht verbunden ist.
2. Mikrotiterplatte nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch
 - eine Einlaufrinne (5;13) in der Wand jeder Probenkammer (3), wobei jede Einlaufrinne (5;13) am Ende eines Zuleitungskanals (6) beginnt und bevorzugt bis zum Boden (4) der Probenkammer reicht.

3. Mikrotiterplatte nach Anspruch 1 oder 2, gekennzeichnet durch
 - einen Zuleitungskanal (6), der in radialer Richtung in die Probenkammer (3) mündet.
4. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 3, gekennzeichnet durch
 - eine Auslaufrinne (18) in der Wand jeder Einfüllstelle (16), die in der Grundplatte (1) angebracht ist, wobei die Auslaufrinne (18) vom Boden (17) der Einfüllstelle bis zur Mündung eines Verbindungskanals (7) in die Einfüllstelle reicht.
5. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 4, gekennzeichnet durch
 - Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) in der Seite der Deckplatte (2), die der Grundplatte (1) zugekehrt ist.
6. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 4, gekennzeichnet durch
 - Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) in der Seite der Grundplatte (1), die der Deckplatte (2) zugekehrt ist.
7. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 6, gekennzeichnet durch
 - ~~Entlüftungsöffnungen (14) in der Deckplatte (2),~~
die die Deckplatte durchdringen und die mit dem Entlüftungsbereich (9) an jeweils einer Probenkammer (3) in der Grundplatte in Verbindung stehen.
8. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 6, gekennzeichnet durch

- mindestens einen Entlüftungskanal (10), der alle Entlüftungsbereiche (9) einer Gruppe von Probenkammern (3) miteinander verbindet, und dessen eines Ende am Rand der Mikrotiterplatte offen ist und die Entlüftungsöffnung bildet,
 - wobei der Strömungsquerschnitt des Entlüftungskanals (10) größer ist als der Strömungsquerschnitt eines Entlüftungsbereiches.
9. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 6, gekennzeichnet durch
- mindestens einen Entlüftungskanal (10) in der Grundplatte (1), der alle Entlüftungsbereiche (9) einer Gruppe von Probenkammern (3) miteinander verbindet, und dessen eines Ende am Rand der Grundplatte (1) offen ist und die Entlüftungsöffnung (11) bildet,
 - wobei der Strömungsquerschnitt des Entlüftungskanals (10) größer ist als der Strömungsquerschnitt eines Entlüftungsbereiches (9).
10. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 6, gekennzeichnet durch
- mindestens einen Entlüftungskanal (10), der zum Teil in der Grundplatte und zum Teil in der Deckplatte angebracht ist und der alle Entlüftungsbereiche (9) einer Gruppe von Probenkammern (3) miteinander verbindet, und dessen eines Ende am Rand der Grundplatte und/oder am Rand der Deckplatte offen ist und die Entlüftungsöffnung (11;14) bildet,
 - wobei der Strömungsquerschnitt des Entlüftungskanals (10) größer ist als der Strömungsquerschnitt eines Entlüftungsbereiches.

11. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 10, gekennzeichnet durch

- eine Einfüllstelle (20;21;24) für eine eine Hilfs-
substanz enthaltende Flüssigkeit, in die
mindestens ein Entlüftungskanal (10) mündet, wobei
das andere Ende jedes Entlüftungskanals (10) über
die Entlüftungsöffnung (11;14) mit der Umgebung in
Verbindung steht und jeder Entlüftungskanal (10)
mit den Entlüftungsbereichen (9) einer Gruppe von
Probenkammern (3) verbunden ist.

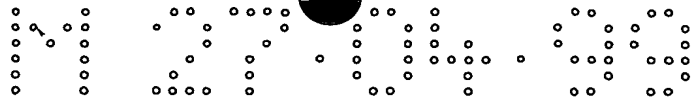
12. Mikrotiterplatte nach Anspruch 11, gekennzeichnet durch

- mindestens eine Auslaufrinne (22) in der Wand
jeder Einfüllstelle (20;21;24), wobei die Auslauf-
rinne (22) vom Boden der Einfüllstelle (20;21;24)
bis zur Mündung eines Entlüftungskanals (10) in
die Einfüllstelle reicht.

13. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 12, gekennzeichnet durch

- mindestens ein erstes Ventil (25,26) in mindestens
einem der Verbindungskanäle (7) zwischen der
Einfüllstelle (8;16) für die dieser zugeordneten
Gruppe von Probenkammern (3) und dem ersten von
dem Verbindungskanal (7) abzweigender zu einer
Probenkammer (3) führender Zuleitungskanal (6)
~~oder sofern ein Entlüftungskanal (10) vorgesehen~~
ist, zwischen der Einfüllstelle (8;16) für die
dieser zugeordneten Gruppe von Probenkammern (3)
und der Entlüftungsöffnung (11;14) des dieser
Gruppe von Probenkammern (3) zugeordneten
Entlüftungskanals (10).

14. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 8 bis 13, gekennzeichnet durch
 - mehrere zweite Ventile (27), die zwischen den Probenkammern (3) mindestens einer Gruppe und dem dieser zugeordneten Entlüftungskanal (10) angeordnet sind.
 15. Mikrotiterplatte nach Anspruch 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, daß das erste und/oder zweite Ventil (25,26;27) als Einmalventil ausgebildet ist/sind, das durch externe Ansteuerung und/oder durch Druckbeaufschlagung des an dem betreffenden Ventil anstehenden Fluids (Flüssigkeit oder Gas) hydraulisch und/oder pneumatisch aus einem Sperrzustand in einen Durchlaßzustand überführbar ist.
 16. Mikrotiterplatte nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß das erste und/oder zweite Ventil (25,26;27) eine Berstfolie und/oder ein hydrophobes Element und/oder eine hydrophobe Innenwandung aufweist.
 17. Mikrotiterplatte nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß das erste und/oder zweite Ventil (25,26;27) eine als Kapillarsprung wirkende Kanalaufweitung aufweist.
 18. Mikrotiterplatte nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Kanalaufweitung infolge einer Druckbeaufschlagung der anstehenden zu steuernden Flüssigkeit auffüllbar ist.
-
19. Mikrotiterplatte nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß in die Kanalaufweitung ein Steuerflüssigkeitskanal einmündet, über den Steuerflüssig-



keit zur Auffüllung der Kanalaufweitung in diesen einbringbar ist.

20. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 19, gekennzeichnet durch

- Probenkammern (3), deren Wände senkrecht zur Grundplatte stehen,
- Probenkammern (3) mit rundem, rechteckigem oder mehreckigem Querschnitt,
- Probenkammern (3) mit ein Volumen von jeweils 0,01 Mikroliter bis 10 Mikroliter.

21. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 20, gekennzeichnet durch

- 50 bis 10 000 Probenkammern (3) in der Grundplatte.

22. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 21, gekennzeichnet durch

- Zuleitungskanäle (6) mit einer Breite von 10 μm bis 500 μm und einer Tiefe von 10 μm bis 500 μm und Verbindungskanäle (7) mit einer Breite von 10 μm bis 1000 μm und einer Tiefe von 10 μm bis 1000 μm ,

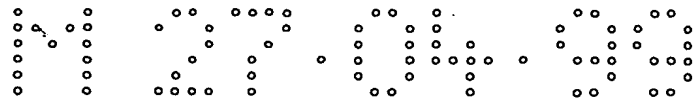
23. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 22, gekennzeichnet durch

~~Einfüllstellen (8,16) mit einem Volumen, das~~
jeweils mindestens dem Volumen der angeschlossenen
Verbindungskanäle (7), der zugehörigen Zuleitungs-
kanäle (6) und der zugehörigen Gruppe von Proben-
kammern (3) entspricht.

24. Mikrotiterplatte nach einem der Ansprüche 1 bis 23, gekennzeichnet durch

- eine Grundplatte (1) und eine Deckplatte (2), die aus Kunststoff, Glas, Metall oder Silizium bestehen.

25. Verwendung der Mikrotiterplatte nach einem der vorhergehenden Ansprüche in der mikrobiologischen Diagnostik, der Blutgruppen-Serologie, der klinischen Chemie, der Mikroanalytik und der Prüfung von Wirkstoffen.



Z u s a m m e n f a s s u n g

Mikrotiterplatte

In der mikrobiologischen Diagnostik und bei anderen Untersuchungsverfahren werden Mikrotiterplatten eingesetzt, bei denen die Verteilung der Näpfchen an die Befüll- und Auswertegeräte angepaßt ist.

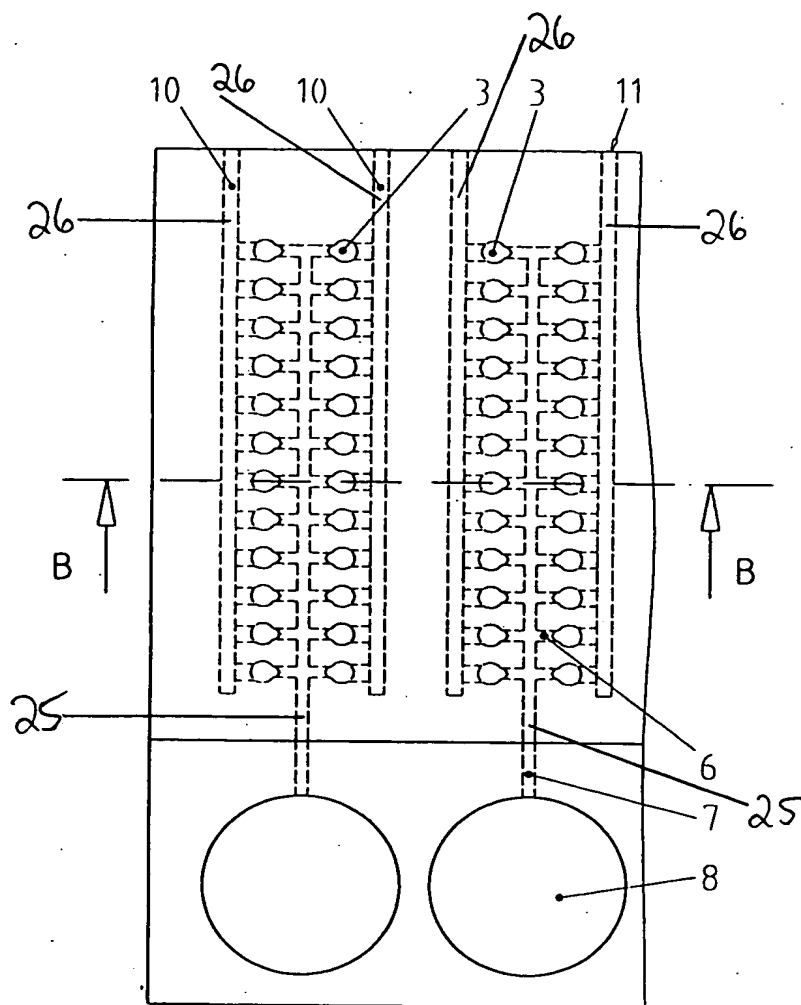
Mit zunehmender Verbreitung und Automatisierung derartiger Untersuchungsverfahren sind die bisher verwendeten Mikrotiterplatten weiterzuentwickeln.

Die erfindungsgemäße Mikrotiterplatte ist auf beiden Seiten verschlossen. Gruppen von Probenkammern sind über Zuleitungs- und Verbindungskanäle mit jeweils einer Einfüllstelle verbunden. An den Probenkammern sind Entlüftungsbereiche angeordnet, die gruppenweise an Entlüftungskanäle angeschlossen sind und mit einer Entlüftungsöffnung verbunden sind. In jeder Probenkammer stellt sich die Füllmenge von selbst ein. Das Befüllen der Probenkammern mit dem zu untersuchenden Fluid wird erleichtert. In das in den Probenkammern befindliche Fluid kann mittels einer weiteren Einfüllstelle über die Entlüftungskanäle nachträglich eine Hilfssubstanz eingebracht werden. Diese Mikrotiterplatte ist beim Lagern und beim Gebrauch einfacher zu handhaben und erlaubt einen erhöhten Probendurchsatz.

Die Mikrotiterplatte ist für verschiedene optische Untersuchungsverfahren geeignet.

(Fig. 2a)

N 27 04 99



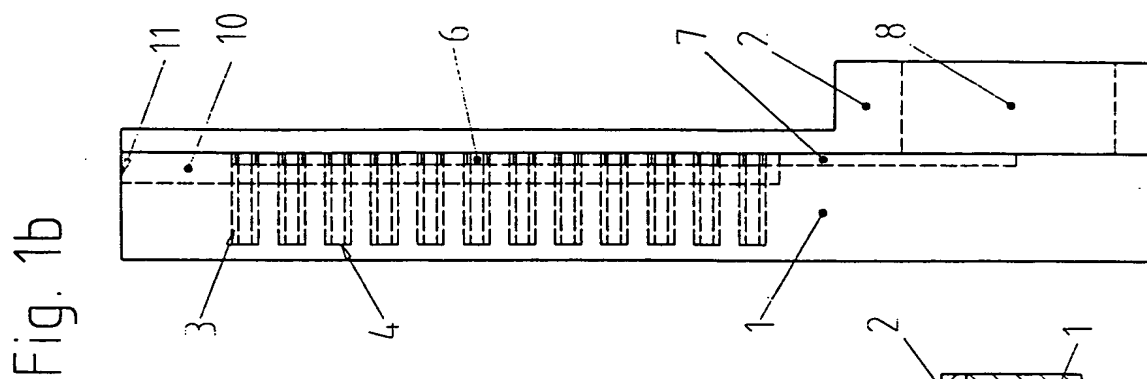


Fig. 1b

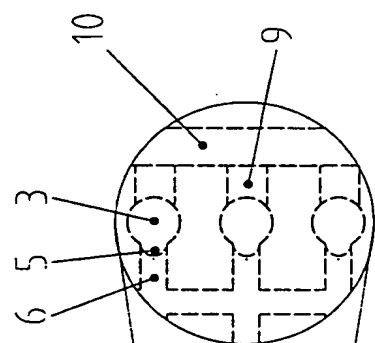


Fig. 1d

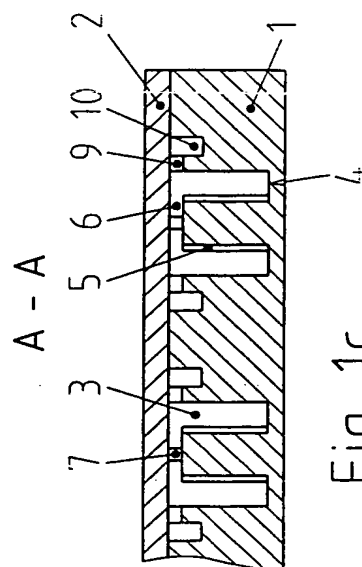


Fig. 1c

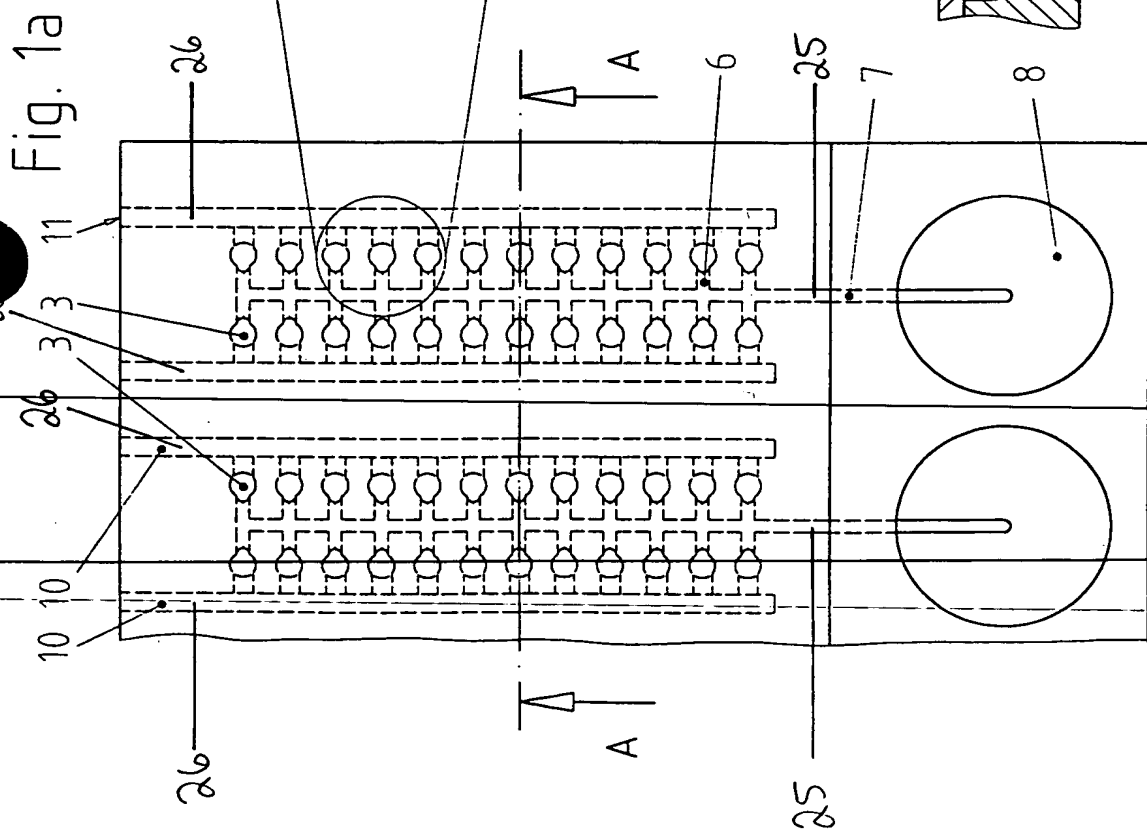


Fig. 1a

Fig. 2b

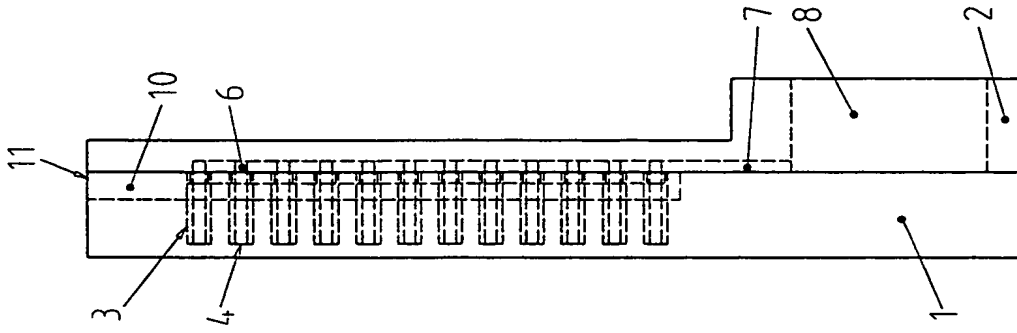


Fig. 2a

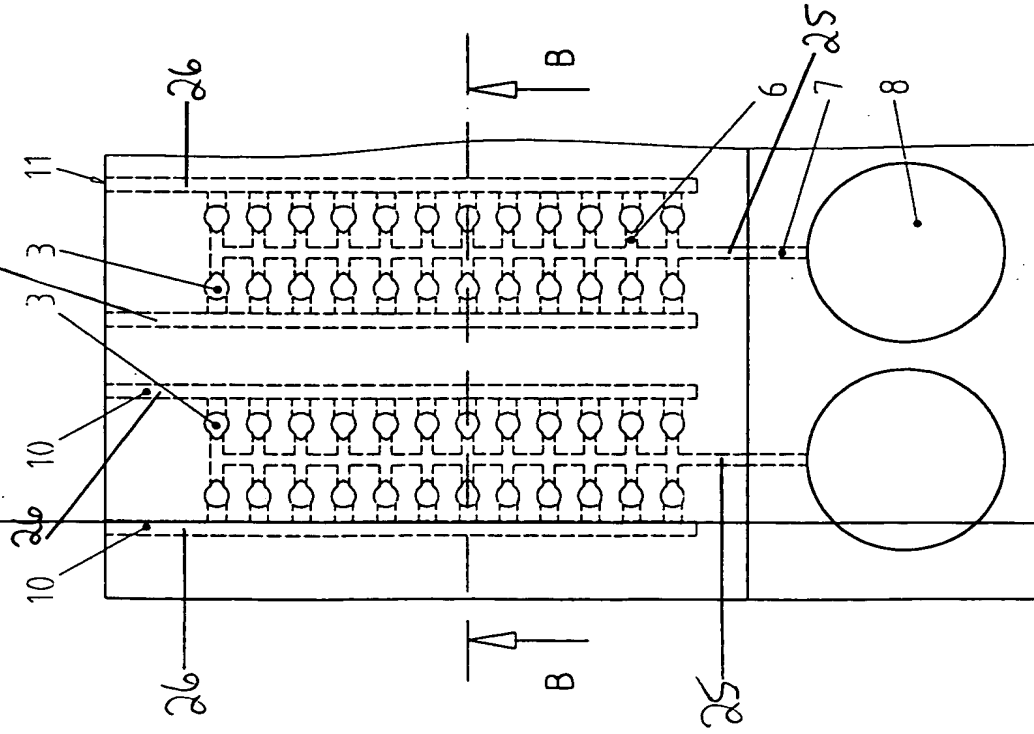


Fig. 2c

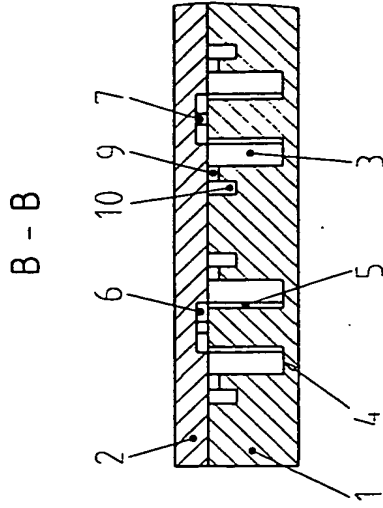


Fig. 3e

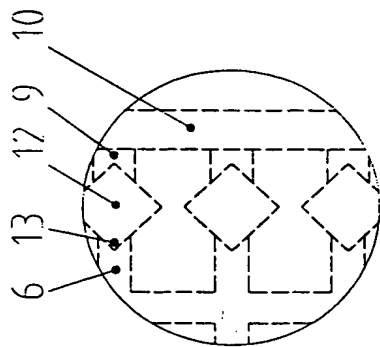


Fig. 3d

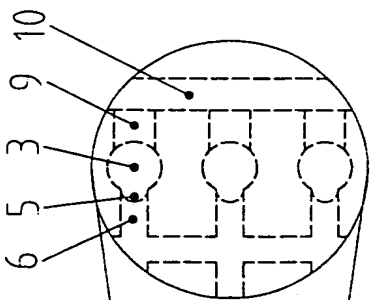


Fig. 3a

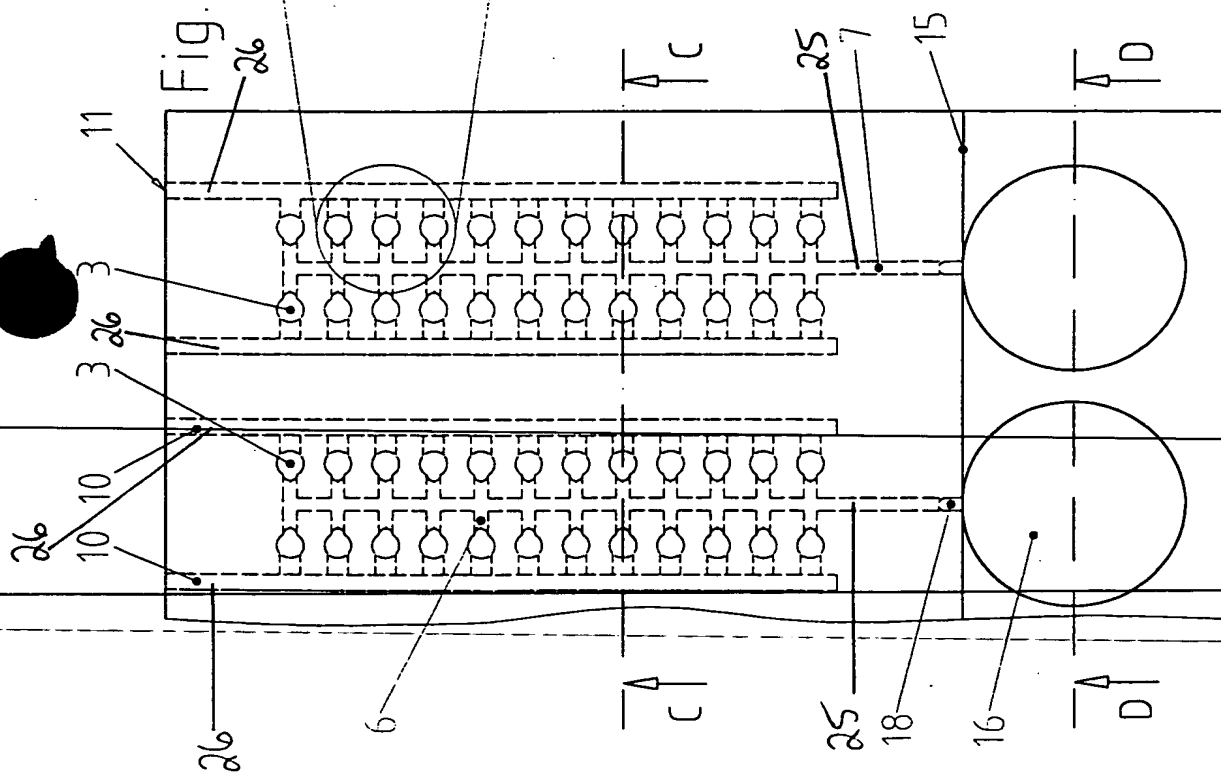


Fig. 3b

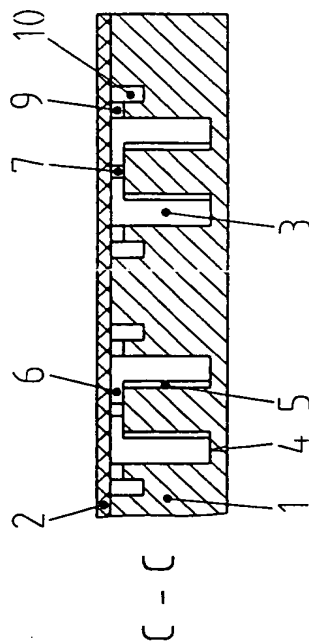
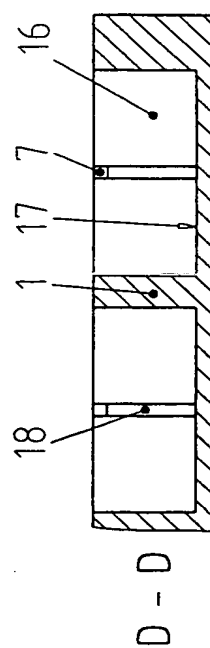
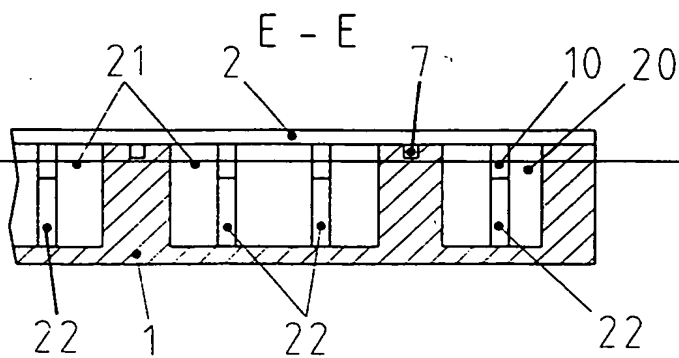
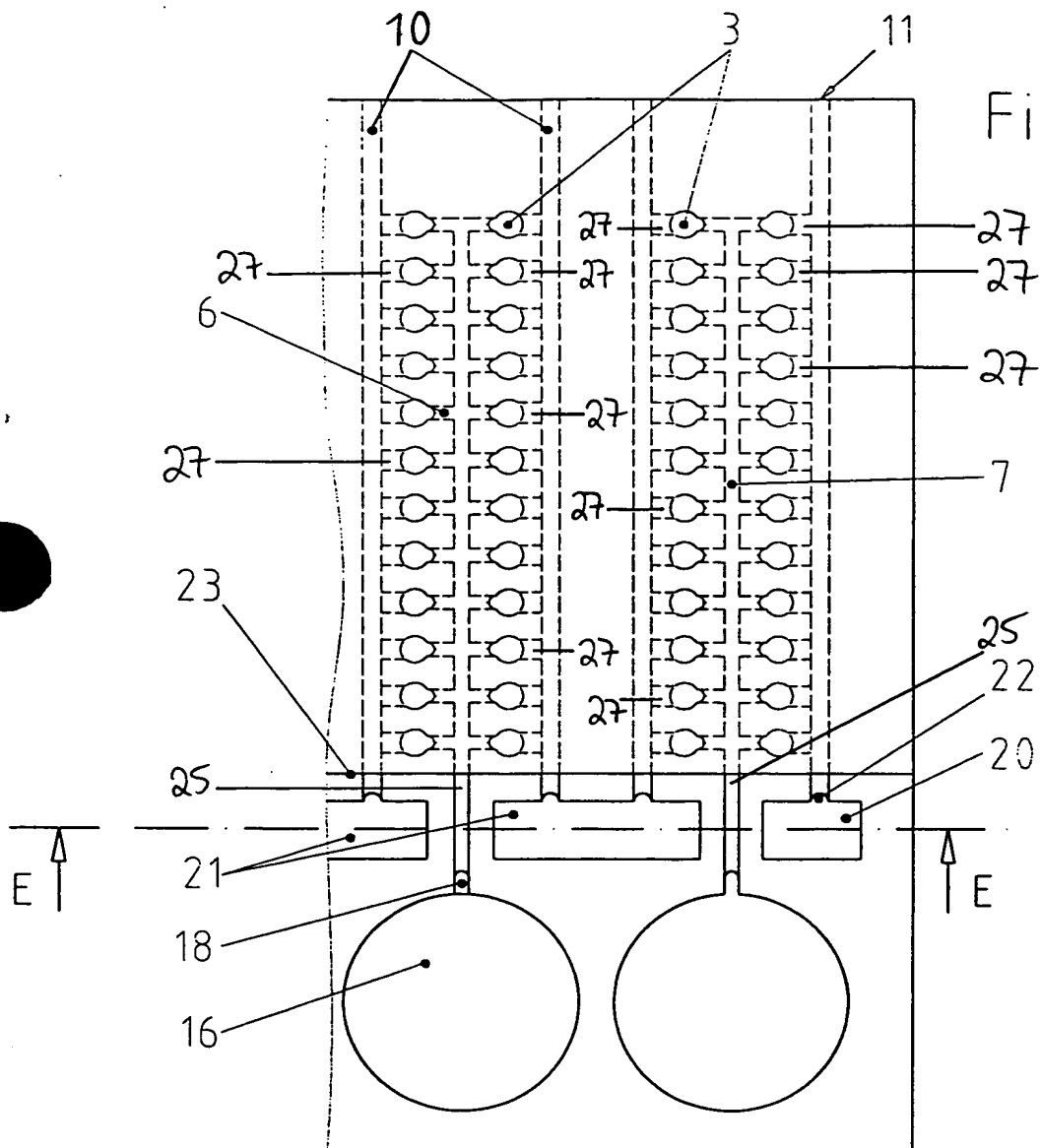


Fig. 3c





M 27 . 04 . 99
- 5 7 -

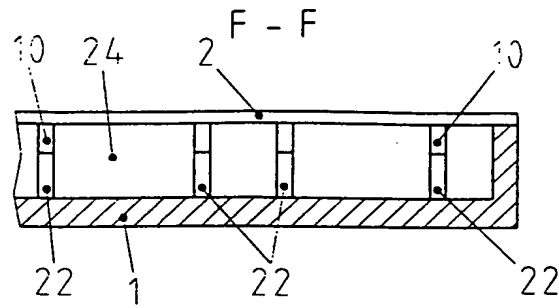


Fig. 5b

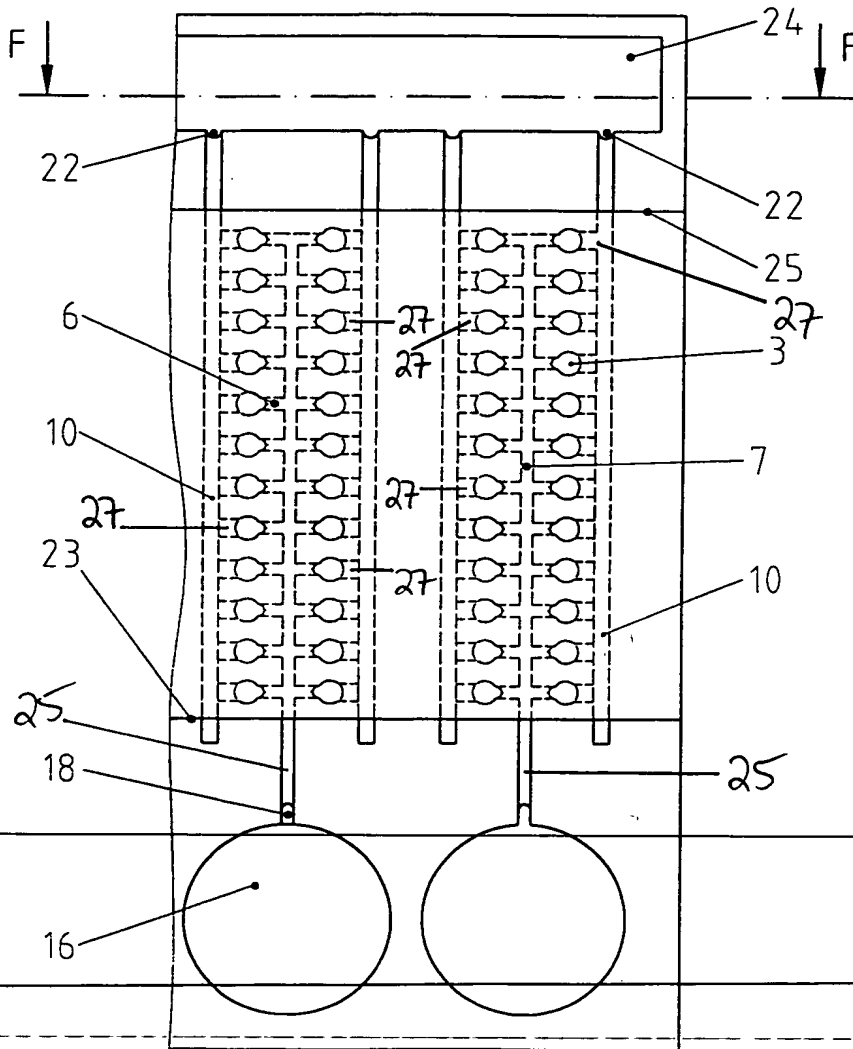
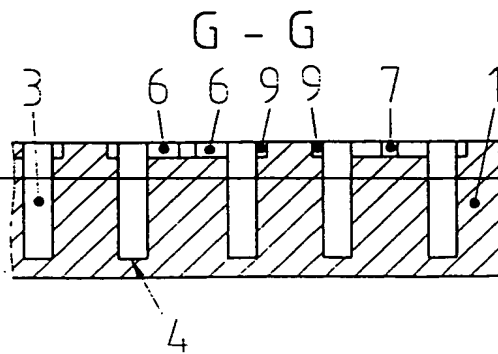
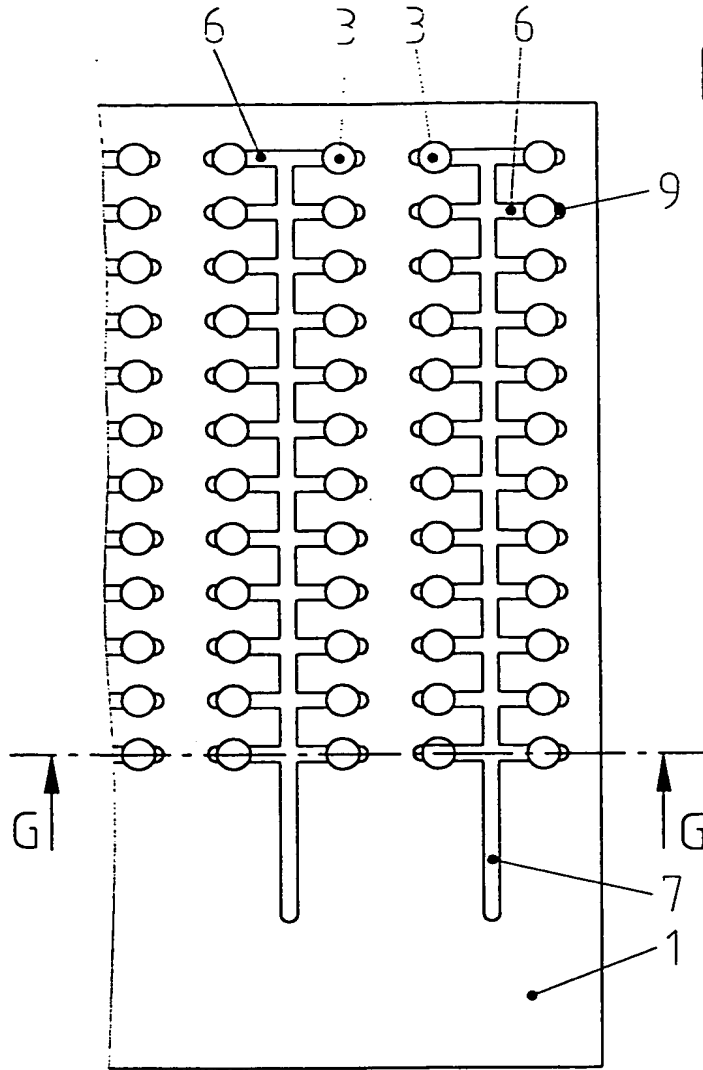
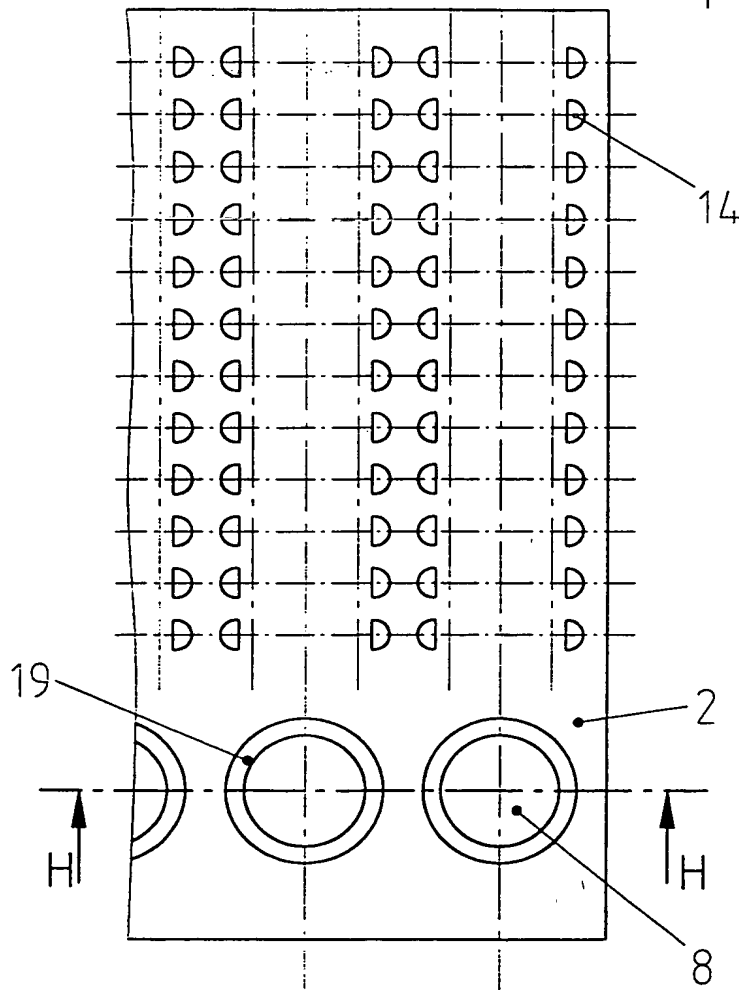


Fig. 5a



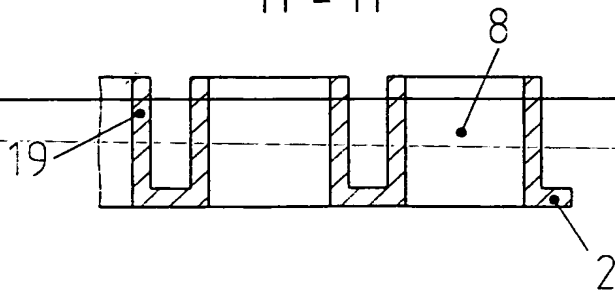
01.27.04.99

Fig. 7a



H - H

Fig. 7b



THIS PAGE BLANK (USPTO)